



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **33401** (13) **U**  
(51) МПК  
**A61K 36/48 (2008.01)**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ**ОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ СУБСТАНЦІЇ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ З АНАБОЛІЧНОЮ ДІЄЮ**

1

(21) u200800470

(22) 14.01.2008

(46) 25.06.2008, Бюл.№ 12, 2008 р.

(72) КАРПЮК УЛЯНА ВОЛОДИМИРІВНА, UA,  
СРЬОМЕНКО РИММА ФУАТІВНА, UA, ГРИЦЕНКО  
ВІТА ІВАНІВНА, UA, КИСЛИЧЕНКО ВІКТОРІЯ  
СЕРГІЙВНА, UA, МАЛОШТАН ЛЮДМИЛА МИКОЛА-  
ЇВНА, UA, ШАТАЛОВА ОКСАНА МИХАЙЛІВНА,  
UA, ГЛАДУХ ЄВГЕН ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-  
ВЕРСИТЕТ, UA

2

(57) Спосіб одержання біологічно активної субстанції рослинного походження з анаболічною дією шляхом двоступеневої екстракції рослинної сировини гарячою водою протягом відповідно 2 годин та 0,5 години з подальшою фільтрацією та упарюванням об'єднаних екстрактів до густої консистенції з вмістом сухого залишку 65-75 %, який **відрізняється** тим, що екстракції піддають траву сої щетинистої у стадії цвітіння при загальному співвідношенні сировини і екстрагенту 1:39-1:41 та постійно підтримуваний температурі 100-105 °С.

Корисна модель відноситься до фармації та медицини, а саме до способів одержання комплексів біологічно активних речовин з рослинної сировини, зокрема біологічно активних субстанцій з анаболічною дією.

Розширення арсеналу анаболічних засобів є актуальною задачею сьогодення. Це пов'язано з проблемою дефіциту білка, яка є актуальною в усьому світі, з проблемами підтримки і регулювання ваги та незасвоєння білка у дітей та дорослих. Препарати з анаболічною дією широко представлені синтетичними та гормональними засобами. Але побічні дії цих засобів підштовхують до створення препаратів, що добре переносяться та практично не мають протипоказань. Багато країн намагаються вирішити цю проблему шляхом введення в раціон людини білка рослинного походження. Тому, розробка та створення рослинних препаратів з анаболічною дією, які добре засвоюються та мають багатий склад біологічно активних речовин, є актуальною проблемою.

Відомий спосіб одержання поліфенольного комплексу з анаболічною дією [Пат. 20253, Україна, МПК A61K 36/48 з. u200608046, заявл. 17.07.2006, опубл. 15.01.2007 Бюл.№1]. Зазначений спосіб здійснюють шляхом екстракції трави сої щетинистої у стадії повної стиглості водою 44-46°C при співвідношенні сировина: екстрагент 1:9-1:11 протягом 1 години при постійній температурі. Одну й ту ж порцію сировини піддають екстракції 5-7 разів. Отримані екстракти об'єднують. Надосадову рідину відфільтровують і висушують. Вихід готового продукту 25-30% від повітряне сухої си-

ровини.

Недоліками відомого способу можна вважати використання води нагрітої до недостатньо високої температури, що не дає можливості повної екстракції комплексу біологічно активних речовин, які виявляють анаболічну дію, використання сировини у стадії повної зрілості, що позначається на фармакологічній активності комплексу, а саме на зниженні його анаболічної активності тому, що стадія повної зрілості для даного виду сировини не є стадією найбільшого вмісту біологічно активних речовин, та недостатньо високий вихід готового продукту відносно нового способу отримання біологічно активної субстанції з анаболічною дією.

Найближчим до заявленого способу можна вважати відомий спосіб отримання фармакологічно активної субстанції з рослинної сировини [Деклараційний патент на корисну модель 7213, Україна, МПК 7 A61K 35/78, 3.20041108899, заявл. 01.11.2004, опубл. 15.06.2005, Бюл.№6]. Спосіб дозволяє одержати субстанцію з анаболічною активністю шляхом двоступеневої екстракції кореневищ і коренів пирію повзучого водою при температурі 96-100°C, причому першу екстракцію проводять протягом 2 годин, а другу - 0,5 години при загальному співвідношенні сировина: екстрагент 1:32. Обидва екстракти змішують, фільтрують і упарюють до густого залишку з вмістом сухих речовин 65-75%. Загальний вихід екстрактивних речовин 23,9% від сухої вихідної сировини.

До недоліків способу за прототипом можна віднести недостатньо високий вихід екстрактивних речовин у перерахунку на суху вихідну сировину,

(13) **U**(11) **33401**(19) **UA**

помірний рівень анаболічної активності, проблематичність видобування кореневищ з коренями пірїю повзучого.

Завданням корисної моделі є створення нового способу одержання біологічно активної субстанції рослинного походження з анаболічною дією шляхом екстракції трави сої щетинистої у стадії цвітіння водою при заданих параметрах способу, в результаті чого одержують субстанцію з вираженою анаболічною дією, не токсичну, без побічних ефектів, яка може бути використана як активна діюча речовина лікарських засобів аналогічного призначення, виконаних у різних лікарських формах.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у спосіб одержання біологічно активної субстанції з анаболічною дією шляхом двоступеневої екстракції рослинної сировини гарячою водою, протягом відповідно 2 годин та 0,5 години з подальшою фільтрацією та упарюванням об'єдна-

них екстрактів до густої консистенції з вмістом згідно з винаходом передбачено, що в якості рослинної сировини використовують траву сої щетинистої у стадії цвітіння, екстракцію проводять при температурі 95-105°C при співвідношенні сировина:екстрагент 1:39-1:41, а сушці піддають відокремлену надосадову рідину.

В якості рослинної сировини вибрана трава сої щетинистої у стадії цвітіння. Саме ця стадія вегетації даної рослинної сировини характеризується максимальним накопиченням різноманітних біологічно активних речовин, зокрема таких, які обумовлюють анаболічну дію субстанції, одержаної за заявленим способом.

Вибір екстрагента та його температури було здійснено експериментальним шляхом, виходячи з кількості одержаних екстрактивних речовин, вартості та екологічної безпечності екстрагента. Фрагмент результатів проведених дослідів наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Вибір екстрагента

Екстрагент	Вода 44-46°C	Вода 95-105°C	спирт 30%	спирт 50%	спирт 70%	спирт 96%
Вихід екстрактивних речовин, %	25,53±0,3	29,93±0,25	25,92±0,17	25,59±0,4	23,51±0,27	11,27±0,4

Дані таблиці 1 свідчать, що оптимальним з безпечності експерименту є вода 95-105°C. Такий екстрагент є дешевим, доступним та екологічно безпечним.

Співвідношення сировини екстрагент 1:39-1:41 знайдено експериментально та є оптимальним для даного виду сировини. Менша кількість екстрагенту не дозволяє ефективно провести екстракцію, окрім того, виникають труднощі технологічного характеру при обробці великої кількості сировини. Надмірна кількість екстрагенту нерациональна тому, що екстракція повністю здійснюється заявленою кількістю екстрагенту. Збільшення останнього веде до зниження концентрації екстракту та, як слідство, до збільшення енергетичних витрат та часу при упарюванні такого екстракту.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином. Траву сої щетинистої у стадії цвітіння висушують, подрібнюють та для найбільш повного вилучення біологічно активних речовин з сировини одну і ту ж порцію сировини двічі екстрагують дистильованою водою підігретою до 100-105°C при загальному співвідношенні сировини: екстрагент 1:39-1:41. Першу екстракцію проводять протягом 2 годин при постійній температурі, а шрот для найбільш повного вилучення біологічно активних речовин повторно екстрагують протягом 30 хвилин. Отримані екстракти об'єднують. Надосадову рідину відфільтровують, з використанням бажано мембранного фільтру і упарюють до густого залишку з вмістом сухих речовин 65-75%.

В результаті здійснення заявленого способу одержують субстанцію у вигляді густого розчину темно-коричневого кольору, солодкуватого на смак, з приємним запахом, легко розчинного у во-

ді, практично нерозчинного у спирті етиловому 96°C. Вихід екстрактивних речовин 32,4-32,5% від повітряне сухої сировини.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. 100г висушеної, подрібненої трави сої щетинистої стадії цвітіння завантажили у екстрактор і залили 3000мл дистильованої води підігретої до 100°C при співвідношенні сировина:екстрагент 1:30. Сировину екстрагували на водяній бані протягом 2 години. Одержаний екстракт злили. Вихід екстрактивних речовин першої екстракції склав 19,0г. Ту саму порцію сировини вдруге залили 1000мл води дистильованої у співвідношенні сировина:екстрагент 1:10 та екстрагували протягом 30 хвилин. Вихід екстрактивних речовин після другої екстракції склав 10,2г. Обидва екстракти об'єднали (4л), піддали фільтрації на мембранному фільтрі та упарили до густої консистенції з вмістом сухих речовин 70%. Загальний вихід екстрактивних речовин склав 29,2г, тобто 32,44% від повітряне сухої сировини.

Приклад 2. З метою вивчення специфічної фармакологічної активності субстанції сої щетинистої, одержаної за заявленим способом, вивчали її анаболічну дію на моделі примусового плавання з навантаженням на статеву незрілих щурах. [Фармакологическая коррекция утомления / Ю.Г. Бобков, В.М. Виноградов, В.Ф. Катков и др. - М.: Медицина, 1984 - 207 с.; Доклинические исследования лекарственных средств (методические рекомендации) Под ред. А.В. Стефанова. - Киев, 2002. - 568 с.]

Як інтегральні критерії анаболічної дії було обрано: приріст загальної маси тіла та литкового м'язу дослідних тварин по відношенню до інтакт-

ного контролю, вміст загального білка у тканинах внутрішніх органів та литковому м'язі, вміст сечовини у сироватці крові та у сечі.

Досліди проводились на білих нелінійних щурах обох статей масою  $60 \pm 5$ . Тварин поділили на 4 групи (по 8 голів у кожній) та протягом всього досліджу (28 днів) утримували в умовах віварію на традиційному водно-харчовому раціоні. Групи характеризували наступним чином: 1 - інтактний контроль, 2 - тварини, що одержували біологічно активну субстанцію за заявленим способом у дозі 100мг/кг. 3, 4 - тварини, що одержували препарати порівняння, а саме «Елькар» (20% розчин левокарнітину) та калію оротат відповідно [Машковский

М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т. - Т. 1-2. - М.: Высшая школа, 2003. - 358 с.].

На 28-му добу від початку експерименту всіх тварин зважували та виводили з експерименту шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом, після чого препарували та визначали масу внутрішніх органів (печінка, серце) та литкового м'язу. У тканині скелетних м'язів (литкова) та тканині печінки і серця визначали вміст загального білку за методом Лоурі, а у сироватці крові та у сечі вміст сечовини з використанням тест-наборів «Lachema».

Результати дослідження наведені у таблиці 2.

Таблица 2

Вплив 28-ми денного внутрішньолункового введення біологічно активної субстанції трави сої на показники анаболічної дії

Вивчаємий показник	Умови експерименту			
	Інтактний контроль	Субстанція сої щетинистої	Елькар	Калія оротат
Маса тіла вихідна, г	61,4 $\pm$ 0,6	62,5 $\pm$ 1,4	61,0 $\pm$ 0,6	61,3 $\pm$ 0,6
Маса тіла наприкінці експерименту, г	91,0 $\pm$ 2,5	131,0 $\pm$ 3,0***	108 $\pm$ 1,3*	103,4 $\pm$ 1,7*
Приріст маси тіла по відношенню до вихідної маси, % (у кілька разів)	28,75 $\pm$ 2,24	68,5 $\pm$ 2,1*	46,75 $\pm$ 1,25*	42,1 $\pm$ 1,9*
Приріст маси по відношенню до контролю, г	48,2 (1,48)	109,6 (2,1)	77 (1,77)	69 (1,68)
Маса литкового м'язу, г	0,154 $\pm$ 0,002	0,168 $\pm$ 0,002*	0,163 $\pm$ 0,001*	0,154 $\pm$ 0,002
Кількість білка у литковому м'язі, мг/100мг тканини	18,1 $\pm$ 0,4	24,6 $\pm$ 1,1* **	21,6 $\pm$ 0,8*	19,7 $\pm$ 0,4
Кількість білка у печінці, мг/100мг тканини	17,0 $\pm$ 0,6	23,5 $\pm$ 0,6*	21,0 $\pm$ 0,6*	18,7 $\pm$ 0,5*
Кількість білка у серці, мг/100мг тканини	17,2 $\pm$ 0,6	24,3 $\pm$ 0,8* **	20,1 $\pm$ 0,7*	18,4 $\pm$ 0,6
Сечовина у сироватці крові, ммоль/л	4,6 $\pm$ 0,3	3,45 $\pm$ 0,2* **	4,4 $\pm$ 0,2	4,45 $\pm$ 0,3
Сечовина у сечі, ммоль/л	418,4 $\pm$ 29,2	291,1 $\pm$ 13,8***	375,7 $\pm$ 18,6	396 $\pm$ 20,3

\*  $p < 0,05$  - відхилення вирогідне по відношенню до інтактного контролю

\*\*  $p < 0,05$  - відхилення вирогідне по відношенню до препарату порівняння (калія оротат)

Отримані результати свідчать, що 28-денне застосування одержаного за заявленим способом екстракту сої на моделі примусового плавання з вагою у дозі 100мг/кг викликає анаболічний ефект, який виявляється у достовірному збільшенні маси тіла, литкового м'язу і змісту рівня білка в тканинах м'язу та печінки. Під впливом вивчаємої субстанції відмічається зниження вмісту сечовини у сироватці крові та у сечі по відношенню до контролю до препаратів порівняння, що непрямо свідчить про стимуляцію білковосинтетичних процесів в організмі та підтверджує анаболічну активність. За анаболічною дією новий засіб перевищує препарати порів-

няння та «Елькар» та калія оротат.

Отже, заявлено новий спосіб одержання біологічно активної субстанції анаболічної дії трави сої щетинистої стадії цвітіння. Спосіб є простим у відтворенні, економічним та екологічно безпечним. Заявлений спосіб може бути здійснений в умовах промислового виробництва з використанням стандартного обладнання. Спосіб передбачає використання дешевої, розповсюдженої в Україні сировини. Субстанція, одержана за заявленим способом, перевершує дію відомих анаболіків, і є перспективною для створення нових лікарських засобів анаболічного призначення.